

## 2.2 Die Akute-Phase-Reaktion

Abernethy und Avery prägten 1941 den Begriff der „Akute-Phase-Reaktion“ (Heinrich 1990). Sie stellt einen Teil der unspezifischen Immunantwort dar. Ferner übt sie eine limitierende Wirkung auf Gewebealterationen und auf das Wachstum bakterieller Krankheitserreger aus (Hirvonen 2000).

Grundsätzlich sind hierbei lokale und systemische Effekte zu unterscheiden. Als lokale Reaktionen sind die klassischen Kardinalsymptome einer Entzündung (Rötung, Schwellung, Wärme, Schmerz und eingeschränkte Funktion) deutlich sichtbar. Diese Anzeichen sind das Ergebnis vieler, an der terminalen Strombahn, ablaufender Ereignisse. Im Entzündungsgebiet kommt es zur Vasodilatation, welche eine Hyperämie zur Folge hat. Durch die Permeabilitätssteigerung in den Kapillaren können vermehrt Plasma und Proteine aus dem Gefäßlumen austreten, wodurch ein Ödem entsteht (Higgins und Lees 1984).

Die chemotaktische Wirkung einiger Entzündungsmediatoren bewirkt das Einwandern neutrophiler Granulozyten per Diapedesis in das Entzündungsgebiet (Lees 1991).

Viele Systeme des Körpers werden vor Ort aktiviert, um ein fremdes Agens zu zerstören und das verletzte Gewebe wieder zu reparieren (Baumann und Gauldie 1994). Dazu gehören u.a. die Gerinnungskaskade, das Komplementsystem und der Arachidonsäurestoffwechsel.

Die systemischen Effekte stellen sich in der Sollwertverstellung der Körpertemperatur im Hypothalamus (Abraham et al. 1998) und der Bildung sogenannter Akute-Phase-Proteine in der Leber dar (Heinrich et al. 1990).

Im Folgenden werden diese Regulationsmechanismen näher beschrieben.

Die Aktivierung der Kaskade geschieht durch die Gewebemakrophagen. Nach einer Alteration setzen sie Zytokine frei (Baumann und Gauldie 1994). Dies sind u.a. Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor $_{\alpha}$  (TNF $_{\alpha}$ ). Neben diesen Zytokinen sind noch andere Mediatoren vor Ort. Histamin und Serotonin liegen gespeichert in Mastzellen vor und werden freigesetzt. Sie erhöhen die Permeabilität der Kapillaren und starten die Gerinnungskaskade und das Komplementsystem. Bradykinin wird aus Plasmakininogen gebildet. Es erhöht ebenfalls die Permeabilität und ist verantwortlich für die Schmerzentstehung (Lees 1991). Die Funktion einiger Mediatoren ist in Tabelle 6 zusammengefasst.

*Tabelle 6: Funktion einiger Mediatoren (nach Playfair und Baron 1995)*

<b>Mediator</b>	<b>vermittelte Funktion</b>
Interleukin-1 (IL-1)	Synthese von Akute-Phase-Proteinen, Bildung von Eikosanoiden, Pyrogen (durch PGE <sub>2</sub> )
Interleukin-6 (IL-6)	Synthese von Akute-Phase-Proteinen, Bildung von Eikosanoiden, Pyrogen (durch PGE <sub>2</sub> ), Stimulierung der Antikörpersekretion in B-Lymphozyten
Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$ (TNF $\alpha$ )	Zytolyse, Wundheilung
Prostaglandine (z.B. PGE <sub>2</sub> , PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub> )	Vasodilatation, Schmerz, Fieber
Thromboxane (z.B. Thromboxan A <sub>2</sub> )	Thrombozytenaggregation
Leuktriene (besonders LTB <sub>4</sub> )	Chemotaxis, Bronchokonstriktion
Komplementfragmente (C3a, C5a)	Chemotaxis
Histamin, Serotonin, Bradykinin	Permeabilitätssteigerung, Schmerz

Die bereits beschriebenen Zytokine haben vielfältige Funktionen. Sie stimulieren die Bildung von Eikosanoiden (griech.: eikos, zwanzig) durch Aktivierung mehrerer Enzymsysteme im Arachidonsäurestoffwechsel. Dabei handelt es sich um die Phospholipase A<sub>2</sub>, die Cyclooxygenase und die Lipoxygenase. Die Bildung von Arachidonsäure aus Phospholipiden der Zellmembranen geschieht durch die Phospholipase A<sub>2</sub>. Die Cyclooxygenase (COX) katalysiert die Bildung von Prostaglandinen, Prostacyclin und Thromboxanen. Von diesem Enzym existieren zwei Isoformen, die COX-1 und die COX-2. COX-1 ist beispielsweise in der Magenwand und den Thrombozyten physiologischerweise vorhanden. Sie übernimmt dort protektive Funktionen. COX-2 wird im Zuge einer Entzündungsreaktion aktiviert (Aiello et al. 1998). Letztere Isoform ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit von größerem Interesse. Die Lipoxygenase vermittelt die Synthese der Leukotriene (Higgins und Lees 1984). Eikosanoide können in allen Zellen des Körpers mit Ausnahme der Erythrozyten gebildet werden. Dabei existieren spezifische Unterschiede. In den Blutplättchen werden fast

ausschließlich Thromboxane gebildet. Die Gefäßendothelzellen hingegen produzieren hauptsächlich Prostacycline.

Andererseits besitzen neutrophile Granulozyten die Eigenschaft, alle Arten von Eikosanoiden zu bilden. Sie besitzen hormonähnliche Eigenschaften. Ihre Wirkung wird schon in einer sehr geringen Dosis über cyclisches AMP (cAMP) in das Zellinnere weitergegeben. Anders als die Hormone wiederum werden Eikosanoide lokal gebildet und nicht über den Blutkreislauf zum Ort ihrer Wirkung transportiert. Eikosanoide werden nicht im Körper gespeichert.

Sie besitzen eine Halbwertszeit von wenigen Sekunden bis Minuten (Voet und Voet 1992). Die gebildeten Leukotriene (besonders Leukotrien B<sub>4</sub>) und Fragmente aus dem Komplementsystem (C3a und C5a) gehören zu den am stärksten chemotaktisch wirkenden Substanzen (Playfair und Baron 1995).

Im Hypothalamus besteht eine interleukinvermittelte Wirkung über das Prostaglandin PGE<sub>2</sub> in der Erhöhung der Körpertemperatur (Baumann und Gauldie 1994).

Nach Abraham et al. (1998) kann eine durch Bakterien stimulierte Sekretion von IL-6 durch Hemmung der Cyclooxygenase gestoppt werden. Dies erklärt, warum der Einsatz von nicht steroidalen Antiphlogistika erfolgreich das Allgemeinbefinden eines Patienten bei bakteriellen Infektionen verbessern kann.

Ein weiterer Effekt der Zytokinwirkung ist die Aktivierung der Hypophyse (Abraham et al. 1998). Hier kommt es zur Freisetzung des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH). Daraus folgt dann die Ausschüttung von Glucocorticoiden aus der Nebennierenrinde. Diese haben eine wichtige regulierende Wirkung auf die Akute-Phase-Reaktion. Über einen negativen feedback-Mechanismus wird die Freisetzung der Interleukine aus den Makrophagen gesteuert, um ein Überschießen der Entzündungsreaktion zu verhindern.

Das Hauptzielorgan der Zytokine IL-1 und IL-6 ist die Leber. Dort wird die Bildung von Akute-Phase-Proteinen stimuliert (Hirvonen 2000). Nachdem das Interleukin am Hepatozyten angedockt hat, wird das Signal zur Bildung der Proteine in das Innere der Zelle weitergegeben (Heinrich et al. 1990). Baumann und Gauldie (1994) beschrieben, dass durch die Wirkung von IL-6 hauptsächlich Haptoglobin, Fibrinogen und Antiproteasen gebildet werden. IL-1 dagegen stimuliert die Synthese von Serumamyloid A und dem C-reaktiven Protein.

### **2.2.1 Beispiele für Akute-Phase-Proteine bei unterschiedlichen Spezies**

Wie bereits erwähnt, wird die Bildung der Akute-Phase-Proteine von unterschiedlichen Entzündungsmediatoren vermittelt.

Die Leber stellt dabei das zentrale Organ der Akute-Phase-Reaktion dar. Die Intensität dieser Reaktion steht in positiver Korrelation mit dem Ausmaß der akuten Entzündung. Das Spektrum der daran beteiligten Proteine unterliegt großen tierartlichen Unterschieden (Horadagoda et al. 1999).

Die größte praktische Bedeutung kommt der Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen in der Humanmedizin zu. Hier wurde der routinemäßige Einsatz zur Diagnostik, Prognosestellung und Bewertung von Behandlungserfolgen beschrieben (Eckersall et al. 1999).

Heinrich (2001) beschrieb Konzentrationsveränderungen der Akute-Phase-Proteine nicht nur im Zuge entzündlicher Erkrankungen, sondern auch bei immunologischen Störungen und malignem Tumorwachstum. Beim Menschen stellen das C-reaktive Protein (CRP) und Serumamyloid-A (SAA) die wichtigsten Marker dar (Mackiewicz 2001). Horadagoda et al. (1999) bestimmten das C-reaktive Protein als wichtigstes Akute-Phase-Protein beim Hund.

Eckersall et al. (1999) führten Untersuchungen zur Arthritis beim Hund durch und bestimmten dabei die Konzentrationen von Haptoglobin, Serumamyloid-A, C-reaktivem Protein und  $\alpha$ 1-acid glycoprotein (AGP). In der Arbeit von Hultén et al. (1999) wurde bei 70, an der equinen Influenza erkrankten Pferden das SAA als nützlicher Marker akuter Infektionen angegeben. Beim Schwein wurden Studien zur Abhängigkeit der Proteinkonzentrationen von Transportstress und hygienischen Umweltbedingungen der Tiere durchgeführt (Gymnich et al. 2001, Pineiro et al. 2001). In beiden Arbeiten wurde Haptoglobin als Parameter herangezogen, mit unterschiedlichen Ergebnissen. Heegaard et al. (2001) bestimmten SAA beim Schwein nach experimenteller Infektion mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* und stellten einen über 1000-fachen Konzentrationsanstieg innerhalb 48 bis 72 Stunden post infectionem (p.i.) fest. Bei den Wiederkäuern wird das Haptoglobin in vielen Arbeiten als wichtigstes Akute-Phase-Protein genannt (Conner et al. 1988, Horadagoda et al. 1999, Grönlund et al. 2001). Seine Bedeutung wird im Weiteren näher beschrieben.

### **2.2.2 Haptoglobin**

Haptoglobin ist ein makromolekulares Protein, das aus zwei Untereinheiten besteht (Morimatsu et al. 1991). Spooner und Miller (1971) berichteten, dass dieses Protein nur in 0,6% der klinisch unauffälligen Rinder messbar war, während es bei fast allen Kühen mit bakteriellen Infektionen zu finden war. Die Funktion des Haptoglobins liegt in der Bindung von Hämoglobin. Damit steht das im Hämoglobin gebundene Eisen nicht mehr für bakterielles Wachstum zur Verfügung.

Haptoglobin wird neben u.a. Ceruloplasmin der Gruppe der Metall bindenden Proteine zugeordnet (Hirvonen 2000). Der Konzentrationsanstieg des Haptoglobins während der Akute-Phase-Reaktion hängt vom Ausmaß des Gewebedefektes ab (Panndorf et al. 1976). Nach Skinner et al. (1994) stellt die Bestimmung des Haptoglobins eine spezifischere Methode dar, als die übliche Hämatologie. Es wurden verschiedene Methoden zur Messung der Haptoglobinkonzentration beschrieben. McNair et al. (1997) verglichen in ihrer Studie den Immunoassay mit der Bestimmung über die hämoglobinbindende Kapazität. Dabei wurden Blutproben von 158 gesunden und von 440 kranken Rindern untersucht.

Die Spezifität des Immunoassays war höher und der Einfluss durch eine eventuelle Hämolyse in der Probe nicht gegeben. Alsemgeest et al. (1994) arbeiteten einen signifikanten Unterschied in der Haptoglobinkonzentration bezüglich akuter oder chronischer Infektion heraus. Auch Conner et al. (1988) konnten zeigen, dass bei Kälbern ein rascher Konzentrationsanstieg innerhalb von 24 Stunden nach einer Terpentininjektion stattfand.

Die dadurch verursachte lokale Stimulierung im Unterhautgewebe rief eine Akute-Phase-Reaktion hervor. Nach elf Tagen war der Ausgangswert bereits wieder erreicht. Ähnliche Ergebnisse fanden auch Grönlund et al. (2001). Nach intrazisternaler Infektion von Kühen mit *Staphylococcus aureus* konnte 24 Stunden später ein Anstieg der Haptoglobinkonzentration beobachtet werden. Die Ausgangswerte lagen in dieser Arbeit bei 0,05 g/l, die Maximalwerte p.i. bei 0,96-2,19 g/l. Skinner et al. (1991) zeigten den Einfluss verschiedener Erkrankungen auf die Haptoglobinkonzentration. Wie auch bei Spooner und Miller (1971) bestand eine signifikante Beziehung zu akuten infektiösen Erkrankungen (Mastitis, akute Metritis). Im Gegensatz dazu hatten Ketose oder Hypokalzämie keinen Einfluss auf die Haptoglobinkonzentration.

### **2.2.3 Fibrinogen**

Die Bestimmung des Fibrinogengehaltes wurde zuerst in der Humanmedizin von Clauss (1957) beschrieben. Hier wurde nach Zusatz von Thrombin zu einer Probe die Gerinnungszeit des Plasmas gemessen. Anhand einer Eichkurve konnte dann der Fibrinogengehalt berechnet werden.

Fibrinogen spielt eine wichtige Rolle in der Gerinnungskaskade und beim Ablauf von Reparaturprozessen im Gewebe. Messow (1959) beschrieb eine gravimetrische Bestimmungsmethode, bei der eine Ausfällung des Fibrins mittels Calciumchlorid stattfand.

Aus dem gemessenen Fibringehalt wurde dann auf die Fibrinogenkonzentration der Probe geschlossen. In dieser Arbeit wurde weiterhin über signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Tierarten berichtet. Der physiologische Fibrinogengehalt des Plasmas steht in Zusammenhang mit den verschiedenen Entzündungstypen. So gehören der Hund und das Pferd zum serösen Entzündungstyp. Hier ist der Fibrinogengehalt niedrig. Andererseits werden Wiederkäuer und Schwein dem fibrinösen Typ zugeordnet. Die Fibrinogengehalte im Plasma sind höher. Bei Ablauf einer Entzündung bilden diese Spezies mehr Fibrin.

Auch dessen Abbau dauert länger als etwa beim Pferd. Ek (1972) hat in seiner Studie Unterschiede bezüglich des Alters herausgearbeitet. Er stellte fest, dass junge Kälber eine niedrigere Fibrinogenkonzentration im Plasma aufwiesen, als adulte Tiere.

Am höchsten war der Fibrinogengehalt bei hochtragenden Kühen. In einem zweiten Experiment dieser Arbeit wurde aufgezeigt, dass der Fibrinogengehalt durch entzündliche Erkrankungen signifikant anstieg. Garry (1984) untersuchte 70 Kälber mit bakterieller Bronchopneumonie und konnte dabei eine prognostisch wichtige Grenze festlegen. 89% der Kälber, die als geheilt entlassen wurden, hatten am Aufnahmetag einen Fibrinogengehalt von weniger als 800 mg/dl. Andererseits lagen die Fibrinogenspiegel bei 88,9% der Kälber, die verendeten oder kümmerten, darüber. Weitere Untersuchungen an Kälbern mit Bronchopneumonie wurden von Kaepke (2002) durchgeführt. Es wurden Maximalkonzentrationen von 1126 mg/dl gemessen. Die mittlere Fibrinogenkonzentration im Plasma von 43 gesunden Kälbern lag in dieser Studie bei 360 mg/dl.

### **2.3 Antiphlogistische Therapie**

Arachidonsäurederivate wie Thromboxan  $A_2$ , Prostacyclin, Prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) und Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) spielen eine große Rolle in der Pathogenese der Endotoxinämie.

Wie bereits in Kapitel 2.2 beschrieben, schüttet die Hypophyse ACTH aus, um auf den Verlauf der Akute-Phase-Reaktion regulatorisch einzuwirken. So hilft die Akute-Phase-Reaktion dem Körper, einen Insult zu überstehen und traumatisches Gewebe zu reparieren.

Sind diese Regulationsmechanismen gestört und es findet eine überschießende Reaktion statt, kann es zum Endotoxinschock kommen (Higgins und Lees 1984). Dann sollte das Wohlbefinden der betroffenen Tiere durch den systemischen Einsatz antiphlogistisch wirksamer Medikamente verbessert werden.

Durch die Anwendung von nicht steroidalen Antiphlogistika (NSAID) wird die Cyclooxygenase gehemmt und somit werden die Symptome der Entzündung abgeschwächt (Golbs und Scherkl 1996). Aus den bereits beschriebenen Effekten der Eikosanoide lässt sich die Wirkung von NSAID ableiten. Sie besitzen antipyretische, antiphlogistische und analgetische Eigenschaften (Aiello et al. 1998). Der Wirkungsmechanismus wird anhand von Abbildung 1 deutlich. Voet und Voet (1992) beschrieben zwei verschiedene Angriffspunkte der NSAID. Acetylsalicylsäure (ASS) bindet irreversibel an das aktive Zentrum und acetyliert die Cyclooxygenase. Andere NSAID wirken vermutlich als kompetitive Inhibitoren, indem sie die Konformation eines Reaktionssubstrates annehmen. Die Hemmung durch die NSAID ist nicht selektiv. Wie bereits in Kapitel 2.2 beschrieben, existieren zwei Isoformen der Cyclooxygenase, die COX-1 und die COX-2. Daraus erklärt sich z.B. die antithrombotische Eigenschaft von ASS. Eine wichtige Nebenwirkung der NSAID ist die Entstehung von Ulzera in der Magenwand, was durch die Hemmung der COX-1 geschieht.

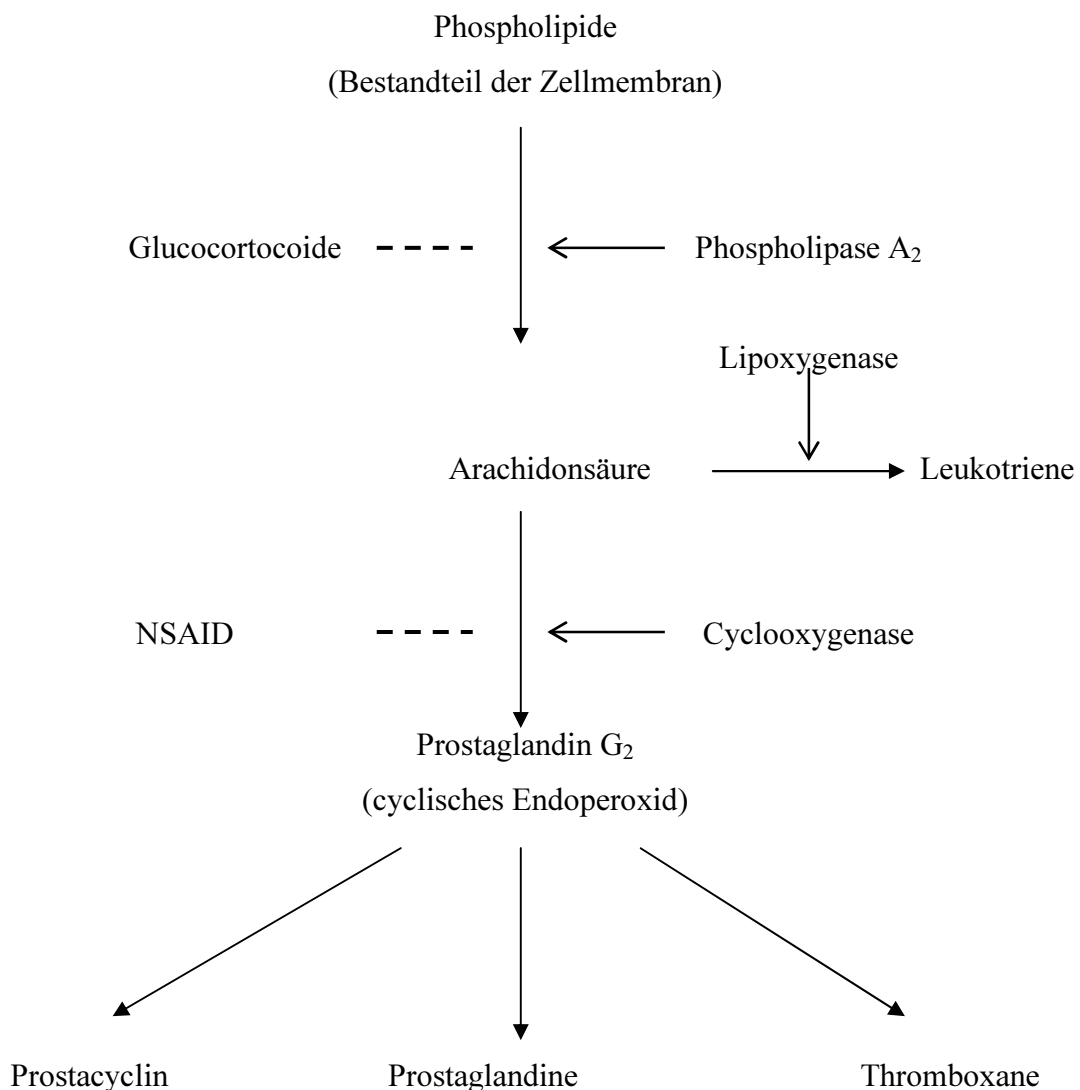


Abbildung 1: schematische Darstellung des Arachidonsäurestoffwechsels

Weitere Nebenwirkungen äußern sich in einer verminderten Durchblutung der Nieren durch die Hemmung der Prostaglandinsynthese. Beim Menschen ist das sogenannte Aspirin-Asthma bekannt, was vermutlich dadurch entsteht, dass die Arachidonsäure aufgrund der Hemmung der Cyclooxygenase in den Lipoxigenaseweg geschleust wird. Daraufhin werden vermehrt Leukotriene gebildet, welche eine bronchokonstriktorische Wirkung besitzen (Aiello et al. 1998). Landoni et al. (1995) stellten eine signifikante Hemmung der Prostaglandinsynthese fest. Dagegen wurde die Bildung von Leukotrien B<sub>4</sub> nicht beeinflusst. Dies bestätigt, dass die Gruppe der NSAID das Enzym Cyclooxygenase hemmt (Odensvik et al. 1996). In Abbildung 1 ist auch das Enzym Phospholipase A<sub>2</sub> aufgeführt.

Es stellt den Angriffspunkt der Glucocorticoide dar. Diese induzieren im Zellkern die Bildung von Lipocortin, einem Protein, das die Synthese des Enzyms unterdrückt. Dadurch wird im Gegensatz zu den NSAID auch die Bildung der Leukotriene gehemmt (Golbs und Scherkl 1996).

Alle NSAID sind schwache Säuren und besitzen pK<sub>a</sub>-Werte im sauren Bereich, was eine Anreicherung im entzündeten Gewebe zur Folge hat (Aiello et al. 1998). Mehrere Arbeiten hatten die Pharmakokinetik der NSAID zum Inhalt (Anderson et al. 1990, Odensvik 1995, Cheng et al. 1998). Messungen der Flunixin-Meglumin-Konzentration im Plasma und im Transudat von Schafen machten eine hohe Affinität zum entzündeten Gewebe deutlich (Cheng et al. 1998). Bereits zwei Stunden nach Injektion konnte der Wirkstoff im Transudat nachgewiesen werden, wobei ein ausreichend hoher Spiegel noch 48 Stunden lang erhalten blieb. Dort wurde die Prostaglandinkonzentration signifikant gesenkt (Espinasse et al. 1994). Die Halbwertszeit im Plasma beträgt für das Rind t<sub>1/2</sub>=8 h, für das Pferd t<sub>1/2</sub>=1,5 h und für den Hund t<sub>1/2</sub>=6-10 h (Golbs und Scherkl 1996).

Bei dem Wirkstoff Flunixin-Meglumin handelt sich um ein Megluminsalz, welches per os, intarvenös und bei Rind und Pferd auch intramuskulär appliziert werden kann. Flunixin ist bekannt als einer der stärksten Cyclooxygenase-Hemmer mit einer sehr hohen Bioverfügbarkeit (>80%). Nach oraler Gabe werden die maximalen Wirkspiegel im Plasma (10µg/ml) nach etwa 30 Minuten erreicht. Allerdings bindet das Arzneimittel stark an Futtermittel, wodurch die Resorption etwas verzögert sein kann. Flunixin wird zu 99 % an Plasmaproteine, hauptsächlich an Albumin, gebunden. Auch diese Tatsache trägt neben dem pK<sub>a</sub>-Wert zur Anreicherung im Entzündungsgebiet bei. Durch die erhöhte Gefäßpermeabilität treten vermehrt Plasmaproteine in das entzündete Gewebe über. Hier können mehrfach höhere Wirkstoffkonzentrationen als im Blutplasma festgestellt werden. Die Ausscheidung des Wirkstoffes erfolgt in glukuronidierter Form über die Nieren (Golbs und Scherkl 1996).



Anderson et al. (1991) beschrieben in ihrer Arbeit einen positiven Effekt hinsichtlich Körpertemperatur und Appetit durch den Einsatz von Flunixin-Meglumin bei Ziegen nach induzierter coliformer Mastitis. Auch Jarlov und Mitarbeiter (1992) beobachteten eine Milderung der klinischen Symptome der Endotoxinämie bei Rindern durch die Gabe von Flunixin-Meglumin und Phenylbutazon.

Die Wirkung der NSAID wurde auch histologisch unterlegt. Bednarek und Mitarbeiter (1999) verglichen in ihrer Studie die Wirkung von Meloxicam und Flumethason bei der unterstützenden Behandlung der Pneumonie des Kalbes. Durch die Anwendung von Meloxicam wurde die Entstehung chronischer Lungenläsionen wesentlich verringert.